中華農業研究（J°ur. agric. Res. China）32(3)：253～258（1983）

大豆不同品種根瘤菌固氮能力與產量間關係之研究[1]

林　錫　錦[2]

摘要：測定七個大豆不同品種之根瘤菌固氮率的差異及其固氮率與產量間之關係。試驗結果顯示七個不同品種之大豆其固氮率及產量均有顯著的差異。固氮率以十石最高，臺農 4 號及高雄 3 號最低。70年秋作產量以高雄 3 號及高雄 8 號最高，十石及中興 3 號最低，但是71年春作產量則以高雄 8 號及和歌島最高，百美豆及十石最低。各品種的固氮率均以 V_8-R_1 期最高。大豆的產量和其固氮率的大小未有絕對的關係存在。由大豆的根部分離篩選得到24菌株的優良大豆根瘤菌。

在適合的生長環境下，一般作物產量的提高，常有賴於氮素的充分供給，以大豆而言，其生長所需之絕大部分氮素是來自於根瘤菌自空氣中所固定者（1，2，5，7），據 Sinclair 及 Wit 等人的報導（13，14），大豆光合作用的能力及其供給作物進行氮素同化作用的能力常決定著大豆的產量。大豆所同化的氮素來源不外乎是存在土壤中的肥料及共生根瘤菌所固定的氮素，而豆科作物產量和其根瘤固氮能力之間可能會有某種特殊關係的存在（3，12，16，18）。因此針對今後大豆的栽培及產量的提高，瞭解不同大豆品種之固氮能力及其和大豆產量之間的關係乃屬相當重要的工作。另外優良根瘤菌的篩選，提供農民優良的接種原以提高產量亦屬相當重要之課題。

材料與方法

一、供試材料：

（一）供試品種計有推廣中的中興 3 號、高雄 3 號、臺農 4 號、高雄 8 號、十石、百美豆及和歌島七個品種。

（二）供試土壤爲本所農場田土、PH5.7、總含氮量0.11%。

二、試驗方法：

（一）田間試驗：於農業試驗所農場進行。

1.大豆種植：70年秋作及71年春作。

2.施肥法：分施用 N-P_2O_5-K_2O＝30-60-40 kg/ha 及施用 P_2O_5-K_2O＝60-40 kg/ha。氮肥用硫酸銨，磷肥用過磷酸鈣，鉀肥用氯化鉀，肥料均以基肥施用。

3.種植法：①每小區面積 9 平方公尺。

②行株距爲 45×15 cm，每小區 9 行。

4.田間設計：每個大豆品種各 4 個重覆，共56小區，以裂區設計法進行試驗。施氮肥與否爲主試區，品種爲副試區。

（二）室內試驗：

1.大豆根瘤固氮能力的測定：

1.臺灣省農業試驗所研究報告第1107號，本文受行政院農發會固氮重點研究計畫補助，謹此致謝。

2.本所農化系研究員。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。

（1）分別於大豆生長期、開花期、結莢、成熟期〔V_5, V_8-R_1, R_3 及 R_5 等期（8）〕等適當的時間，至田間採取作物根瘤測定其固氮活性。（2）根瘤固氮活性測定的方法：以乙炔還原法測定之（9），每個樣品採取兩株的大豆根瘤洗淨，置於業經殺菌50 mℓ 的三角瓶中，套以殺過菌之瓶塞，抽出 5 mℓ 的空氣，並打入 5 mℓ 之乙炔，於 26 °C 下孵育30分鐘，然後以針筒抽取 1 mℓ 之混合氣體，打入氣層分析儀中，測定生成乙烯量，並換算成固氮酵素之固氮活性（μ mole N_2 fixed/g fresh nodule/hr.）。

2.強力固氮根瘤菌之選拔：（根瘤部份採自試驗地，部份採自雲林、屏東）

（1）取固氮能力強的根瘤，以酒精洗過後，浸於 0.1%之酸性昇汞水中3～4分鐘，再以無菌水洗清5～6次。

（2）將根瘤於培養皿上打碎，取其汁液於 Yeast-mannitol agar 上進行劃線分離並加以純化。

（3）此分離出來的根瘤菌，再以大豆幼苗接種試驗法確定其根瘤形成及固氮的能力。

結果與討論

一、不同品種大豆產量及其和施肥與否之關係：

由表1.及表2.結果顯示不同大豆品種之產量有顯著的差異，其中70年秋作高雄3號及高雄8號產量最高，而十石最低。71年春作產量以高雄8號及和歌島最高，百美豆及十石最低。另外，每公頃施用N 30 kg/ha 的硫銨對大豆產量並無影響（由變方分析的結果，施氮與否其產量在5%水準不顯著，表1.及表2.），早在 1966 年 Weber（15）就曾報導，生長根瘤之大豆品系，施用氮肥時並未能增加的大豆產量，而 Welch 等人在1973年的報告中亦有類似的結果。施用氮肥會減少大豆進行生物性固氮的總量，然而是否會因此而影響大豆的產量則並不一定。在本實驗中，施氮肥不能增加大豆的產量，可能為下列因子所致即（1）在含氮素少的土壤中（全氮含量0.11%），所施用的硫銨基肥，極可能會因土壤微生物固氮作用的進行，而變成無效態或緩效態者，使大豆植株可利用的氮素減少。（2）施肥與否，大豆根瘤數的差異雖不顯著，然而施氮肥處理的大豆植株其根上根瘤數目，除了十石之外，均有減少的趨勢（如表3），根瘤數的減少所造成固氮總量的降低，亦可能是減少大豆可利用氮素的原因。

表1. 70年秋作不同品種大豆之產量

品種	產量 (kg/ha)
高雄3號	1,854a*
高雄8號	1,738a
和歌島	1,522b
百美豆	1,410b
臺農4號	1,380b
中興3號	1,362bc
十石	1,170c

*由鄧肯氏新多重變域分析，若英文字母相同者在5%水準不顯著。

表2. 71年春作不同品種大豆之產量

品種	產量 (kg/ha)
高雄8號	1,615a*
和歌島	1,420ab
中興3號	1,315bc
高雄3號	1,175bc
臺農4號	1,095c
十石	1,045cd
百美豆	825d

*由鄧肯氏新多重變域分析，若英文字母相同者在5%水準不顯著。

表3. 不同大豆品種根瘤數*

品種	根瘤數／每株			
	70年秋作		71年春作	
	不施氮肥	施用氮肥	不施氮肥	施用氮肥
臺農4號	23.9	10.8	24.1	14.8
高雄8號	14.4	11.1	13.5	11.6
中興3號	14.1	11.9	12.8	12.8
和歌島	13.5	9.1	18.9	10.5
高雄3號	12.3	10.7	15.1	13.1
百美豆	10.7	9.3	12.4	11.3
十石	9.0	10.2	14.5	12.4
L. S. D.	氮肥5%		氮肥5%	
	品種5%	4.03	品種5%	4.89

*R_5 期根瘤數

二、不同品種大豆根瘤固氮能力及其和施肥與否之關係：

由表4統計結果顯示，在四個不同時間根瘤固氮能力中施用 N 30 kg/ha 之氮肥與否並沒有顯著的差異。然而不同品種根瘤之固氮能力卻有極顯著的差異，在供試的七個大豆品種中，十石及和歌島一直都有較高的固氮活性。臺農4號及高雄 3 號之固氮活性最低。根據 Brockwell and Hely 在1966年的報導（3），根瘤固氮的能力是根瘤菌和寄主之間相互作用的結果，另外土壤之氧氣供給情形，水分多寡，Mo. S. Cu 之含量以及植物本身光合作用供給氮素同化的能力也都是影響根瘤固氮能力的因子（4，6，10，11，13）。由於本實驗栽種大豆之土壤性質並無甚大差異，因此十石及和歌島之高固氮能力可能是土壤中所存在的根瘤菌和此兩大豆品種有比較親近的親和力之故。由表4所示，七個大豆品種之根瘤菌固氮能力均以 V_8-R_1 stage 最高，這可能是因爲此時根瘤發育完全，且屬年青時期，而且此時大豆主要葉子都已長出，能有效地進行光合作用，供給根瘤中之根瘤菌固氮時所需之營養及 NH_3 進一步的同化作用。

表4. 不同品種大豆固氮活性（μ mole N_2/g fresh nodule/hr）

大豆品種	70年秋作				71年春作			
	V5	V_8-R_1	R_3	R_5	V5	V_8-R_1	R_3	R_5
十石	1.16a*	2.13a*	1.18a*	1.41a*	1.22a*	2.25a*	1.21a*	1.40a*
和歌島	1.22a	2.09a	1.21a	0.36b	1.03ab	1.64b	1.18a	0.49b
中興3號	1.04a	1.48b	1.06a	0.45b	0.98ab	0.56de	1.06a	0.45bc
百美豆	0.80ab	1.21bc	0.78b	0.22c	0.79bc	0.30e	0.78a	0.22cde
高雄8號	0.62bc	1.39b	1.01a	0.29c	0.62cd	1.06c	1.01b	0.29bcd
高雄3號	0.48c	0.97cd	0.42c	0.15cd	0.48cd	0.90cd	0.42c	0.15de
臺農4號	0.42c	0.85d	0.28c	0.04d	0.53d	0.90cd	0.28c	0.04e

*由鄧肯氏新多重變域分析，若在同一行中英文字母相同者在5％水準不顯著。

三、不同品種大豆產量差異原因之探討：

一般而言，決定不同品種大豆產量的原因，最主要者還是作物氮素同化的能力及其本身光合作用的能力。綜合表1、表2及表4的結果，似乎大豆產量和其固氮活性的大小沒有直接關係存在。以十石而言，其固氮活性雖然在整個生長期中都是七個供試品種中最高者，但是其產量却是最低者（表1）或次低者（表2）而低固氮活性的高雄3號及高雄8號却有最高的產量（表2）。由此可以推知不同大豆品種間固氮活性的差異，並非惟一影響大豆產量的唯一因子，大豆所擁有的其他特性對其產量亦可能具有決定性，例如十石，其產量低的原因就可能是因爲植株矮小（如表5），可能直接或間接減少大豆進行光合作用的面積，根瘤數目少（如表6）且生長期短所致。十石較其他品種早熟，其根瘤數目較少，雖然生長期各測定期其固氮活性均較高，然而全部生長期總固定的氮量恐怕不比其他品種高。傳統及文獻上均以每小時每克根瘤的固氮量來表示大豆的固氮能力，此點以後的實驗應當改進。應該以（1）生長期不同時期之每小時每株大豆的總根瘤固氮量來計算表示（白天與夜晚又須分開計算），然後再換算爲整個生長期每公頃之固氮量（譬如一公頃約有40萬株大豆來計算）（2）以全部生長期的總固氮量來計算才較合理，因爲有的品種早熟，有的中熟、有的晚熟，其生長期所固定的總氮量就有差異。因爲以每克根瘤每小時的固氮活性未能計算全部生長期的總固氮量，因此也就未能計算固氮總量與產量間的相關係數。此點以後試驗應加以改進。另外不同品種對不同季節的適應性也可能影響產量，例如在70年秋作百美豆之產量居於七個品種之當中，可是在71年春作其產量則爲最低者。

表5. 不同品種大豆株高（70年秋作）

大豆品種	株高[a]（cm）
百美豆	52.3a*
和歌島	43.4b
臺農4號	41.5bc
高雄3號	40.0bc
高雄8號	36.5cd
中興3號	33.7d
十石	27.4e

a 收穫時之株高

* 由鄧肯氏新多重變域分析，若英文字母相同者在5％水準不顯著。

表6. 不同大豆品種根瘤數[a]

大豆品種	根瘤數／每株	
	70 年秋作	71 年春作
臺農 4 號	17.4a*	19.4a*
中興 3 號	13.0b	13.8b
高雄 8 號	12.8b	12.6b
高雄 3 號	11.5b	14.1b
和歌島	11.3b	13.2b
百美豆	10.0b	11.8b
十石	9.6b	13.4b

a R_5 期根瘤數

* 由鄧肯氏新多重變域分析，若在同一行中英文字母相同者在 5 %水準不顯著。

四、由本試驗，從大豆根部分離得到一些大豆根瘤菌，再以大豆幼苗接種確定有根瘤形成者共有24菌株。

參考文獻：

1. Balappa, K. Pugashetti and George H. Wagner. 1979. Interactions of *Rhizobium japonicum* strains in soybean nodules and their contribution to N_2-fixation. Plant and Soil 53, 463-475.
2. Bergersen, F. J. (1971). Biochemistry of symbiotic nitrogen fixation in legumes. Ann Rev. Pl Physiol., 22 : 121-140.
3. Brockwell, J., and Hely, F. W. (1966). Symbiotic characteristic of *Rhizobium meliloti* : an appraisal of the systematic treatment of nodulation and nitrogen fixaiton. Interactions between hosts and rhizobia and diverse origin. Aust. J. Agri Res., 17 : 885-899.
4. Ching, T-M., Hedtke, S., Russel, S. A., and Evans, H. J. (1975)Energy state and dinitrogen fixation in soybean nodules of dark-grown plants. Pl Physiol., 55 : 796-798.
5. Date, R. A. 1975. The development and use of legumes inoculants. In Biological N_2-fixation in Farming Systems of the Tropics (Edited by A. Ayanaba and P. J. Dart) pp. 169-180.
6. Evans, H. J., and Russell, S. A. (1971) Physiological Chemistry of symbiotic nitrogen fixation by legumes. In the Chemistry and Biochemistry of Nitrogen Fixation, edited by J. R. Postgate.
7. Ezedinma, F. C. C., N. N. Agbin and S. S. C. Onyekweli. 1979. The contribution of symbiotic nitrogen-fixation to the nitrogen economy of natural ecosystems. Plant and Soil 51, 503-513. pp. 191-244 Plenum press, London and New York.
8. Fehr, W. R., Caviness, C. E., Burmood, D. T., and Pennington, J. S. (1971). Stages of development descriptions for soybeans, Glycine Max (L.) Merrill. Crop Sci. 2 : 928-931.
9. Hardy, R. W. F., Holsten, R. D., Jackson, E. K., and Burns, R. C. (1968) The acetylene-ethylene assay for N_2-fixation : Laboratory and field evaluation. Plant Physiol., 43. 1185-1207.
10. Huang, C-Y., Boyer, J. S., and Vanderhoef, L. N. (1975a). Acetylene reduction (nitrogen fixation) and metabolic activities of soybean having low water potentials. Pl. Physiol., 56 : 222-227.
11. Huang, C-Y., Boyer, J. S., and Vanderhoef, L. N. (1975b) Limitation of acetylene reduction (nitrogen fixation) by photosynthesis in soybean having low water potentials. Pl. Physiol., 56 : 228-232.

12. Law, I. J. and Strijdom, B. W. 1977. Some observations on plant lectins and Rhizobium specifity. Soil Biol. Biochem., 9. 79-84. 13. Minchin, F. R., and Pate, J. S. (1973). The carbon balance of a legume and the functional economy of its root nodules. J. Exp. Bot., 24, 259-271.
14. Sinclair, T. R. and C. T. de Wit. (1976). Analysis oj the carbon and nitrogen limitations to soybean yield. Agron. J. 68 : 319-324.
15. Weber, C. R. (166). Nodulating and nonudulating soybean lines : II Response to applied nitrogen and modified conditions. Agron. J. 58 : 46-49.
16. Van Egerat, A. W. S. M. 1975. The growth of *Rhizobium leguminosarum* on the root surface and in the rhizosphere of pea seedlings in relation to root exudates. Pl. Soil, 42, 367-379.
17. Vincent J. M. 1970. A manual for the practical study of the root nodule bacteria. International Biological Programme. 1970. Burges and son Ltd, Berkshire, England.
18. Winarno, R., and T. A. Lie. 1979. Competition between Rhizobium strains in nodule formation : Interactions between nodulating and non-nodulating strains. Pl. Soil 51, 135-142.

Studies of the Relationship Between the N_2-fixation Activity of *Rhizobia* and the Yield of Different Soybean Varieties[1]

Chyi-Jiin Lin[2]

Summary

This experiment was conducted to study the difference in N_2-fixation rate among 7 soybean varieties and its effect on soybean yield. The N_2-fixation rate and yield varied among 7 soybean varieties. In general, the highest N_2-fixation rates were recorded in cv. Shih-shih and the lowest in cvs. Tainung No. 4 and Kaohsiung No. 3. The highest yield was obtained in cvs. Kaoshiung No. 3 and Kaoshiung No. 8 and the lowest in cvs. Shih-shih and Chung-Hsing No. 3 in the fall crop of 1981. However, in the spring crop of 1982, the highest and lowest yield were observed in Kaoshiung No. 8 and Wakasim a, Shih-shih and palmetto, respectively. The highest N_2-fixation rate was recorded at V_8-R_1 stage during the soybean growth of all varieties. No relationship was observed between N_2-fixation rate and yield. The application of N30 kg/ha did not significantly inhibit the N_2-fixation rate at any of the soybean growth stages. Twenty-four isolates of high N_2-fixing Rhizobium were obtained from soybean roots in this study.

1. Contrilution No. 1107 from the Taiwan Agricultural Research Institute. This study was supported by CAPD, Taiwan, ROC.
2. Senior Microbiologist, Department of Agricultural Chemistry, TARI, Taichung Hsien , Taiwan 431, ROC.